



Studi Histopatologi Pasca Pemberian Ekstrak Campuran Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* L. R. Br.) Dan Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) pada mencit terinfeksi *Plasmodium berghei*

Histopathological study After delivery Mixed Extract of Alstonia scholaris Bark and Phyllanthus niruri administration in Plasmodium berghei Infected mice

Putri Retno Intan¹, Tri Wahyuni Lestari², Yulvian Sani³

¹Research Center, Biomedical Development and Basic Technology of Health

²Research Center, Development of Resources and Health Services

³Veteriner Research Center

KATA KUNCI KEYWORDS

Limpa; hati; *Alstonia sholaris*; *Phyllanthus niruri*; *P. berghei*
Spleen; liver; *Alstonia sholaris*; *Phyllanthus niruri*; *P. berghei*

ABSTRAK

Limpa merupakan tempat respon imun utama yang merupakan saringan terhadap antigen asal darah. Hati adalah target organ yang berperan penting dalam aktivitas parasit dan respon imun host. Sedangkan Malaria serebral sering timbul sebagai komplikasi yang menyebabkan kematian. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak kulit batang pulai dan meniran terhadap gambaran limpa, hati dan otak mencit galur swiss yang terinfeksi *Plasmodium berghei* (*P. berghei*). Uji antimalaria menggunakan 72 ekor mencit yang dibagi menjadi 6 kelompok dosis yaitu kelompok CMC, DHP, dosis campuran 1330; 443,34; 147,78 mg/kg bb dan dosis pulai 1330 mg/kgbb. Semua mencit diinfeksi dengan *P. berghei*(D0) kemudian diberi ekstrak peroral selama 14 hari. Organ limpa, hati dan otak diberi pewarnaan Haematoksin Eosin (HE) diambil pada hari ke-4, 7 dan 14 masing-masing 4 ekor setiap kelompok percobaan, untuk dilihat gambaran kerusakannya. Indeks organ limpa dan otak pada puncak infeksi pada semua kelompok percobaan tidak memperlihatkan perbedaan yang signifikan, sedangkan indeks hati terkecil pada puncak infeksi terdapat pada kelompok DKC. Hasil pengamatan histopatologi kerusakan organ limpa, hati dan otak pada kelompok dosis besar campuran memperlihatkan kerusakan organ yang lebih ringan dibandingkan dengan kelompok lainnya.

ABSTRACT

*The spleen is a primary immune response to an antigen which is the origin of the blood filter. The liver is a target organ that plays an important role in the activity of the parasite and the host immune response. While Cerebral malaria often occurs as a complication which causes death. This study aimed to determine the effect of a combination of bark extract islands and meniran the picture spleen, liver and brain strain swiss mice infected with *P. berghei*. Antimalarial test using 72 mice were divided into six dose groups: group CMC, DHP, dose mixture of 1330; 443.34; 147.78 mg / kg bw and doses pulai 1330 mg / kg. All the mice infected with *P. berghei* (D0) and then extract orally for 14 days. Spleen, liver and brain by staining Haematoksilin eosin (HE) were taken on days 4, 7 and 14 each 4 heads each experimental group, to see an overview of the damage. Index spleen and brain at the peak of infection in all experimental groups showed no significant difference, while the index of the smallest liver at the peak of infection are those of DKC. The observation of histopathological damage to the spleen, liver and brain in a large dose group showed a mixture of organ damage that is lighter than the other groups.*

PENDAHULUAN

Malaria merupakan salah satu penyakit mematikan di dunia. Meskipun dapat dicegah dan diobati, malaria berdampak pada kesehatan dan mata pencaharian masyarakat di seluruh dunia. Menurut WHO sekitar 3,2 miliar orang berisiko penyakit malaria di 97 negara pada tahun 2013 dan kasus kejadian penyakit diperkirakan sebesar 198 juta kasus (kisaran :124,000,000-283,000,000) (WHO, 2016). Meluasnya resistensi plasmodium sebagai penyebab malaria terhadap obat antimalaria makin mempersulit pemberantasan malaria (Wijayanti dkk., 2013). Ada empat malaria pada manusia (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* dan *P. ovale*), dimana *P. falciparum* dan *P. vivax* adalah yang paling umum dan *P. falciparum* yang paling berbahaya. *P. knowlesi* adalah plasmodium zoonosis

yang juga dapat menginfeksi manusia. Timbulnya resistensi parasit malaria terhadap obat antimalaria yang tersedia, mendorong penelitian dalam mencari obat antimalaria baru yang efektif. Salah satu usaha menemukan antimalaria baru adalah melalui penelitian terhadap tanaman obat yang digunakan secara tradisional oleh masyarakat di beberapa tempat untuk mengobati malaria. Resistensi timbul akibat penggunaan obat malaria tidak adekuat dan tidak sesuai dengan aturan cara pemakaian (Siswandono dkk., 2000). Salah satu alternatif pengobatan malaria adalah dengan menggunakan tanaman obat. Dengan penggunaan tanaman obat, diharapkan kerusakan beberapa organ seperti hati dan limpa akibat plasmodium bisa dikurangi.

Correspondence:

Putri Retno Intan, Biomedical Development and Basic Technology of Health Research Center.
Email: putrirenointan@yahoo.com

Diantara tanaman tanaman tersebut adalah kulit batang pulai dan meniran. Diharapkan tanaman tersebut berfungsi sebagai anti parasit dan dapat meningkatkan imunitas. *Alstonia* masuk kedalam famili Apocynacea. *Alstonia scholaris* atau tanaman pulai banyak digunakan untuk berbagai macam pengobatan penyakit. Bagian tanaman yang dapat dimanfaatkan dan sudah banyak diteliti diantaranya adalah daun, kulit batang dan akar. Pada penelitian ini akan dilihat pengaruh kulit batang pulai. Menurut Singh *et al.*, kulit batang pulai dapat digunakan sebagai tonic, aphrodisiac, febrifuge, stimulant, expectorant, astringent, nyeri lambung, Leishmania dan demam malaria (Singh MP *et al.*, 2005).

Meniran masuk kedalam marga *Phyllanthus*. *Phyllanthus niruri* atau meniran memiliki aktivitas sebagai imunostimulan, hepatoprotektif, antimalaria, analgesik, dan antibakteri (Elfahmi, 2006), meniran mengandung sejumlah flavonoid seperti kuersetin, kuersitrin, serta mengandung kaempferol, filantin triterpen dan alkaloid sekurin (ASEAN, 2004). Pada penelitian ini bagian yang diambil dari meniran adalah bagian daun, batang dan bunga.

P. berghei adalah hemoprotozoa yang menyebabkan penyakit malaria pada rodensia dan mempunyai sifat dasar biologi (morfologi, siklus hidup, genetika) sama dengan plasmodium yang menyerang manusia. Siklus hidup parasit malaria berlangsung pada nyamuk anopheles untuk siklus seksual (sporogoni) dan pada inang vertebrata untuk siklus aseksual. Sebagian pertumbuhan parasit pada inang terjadi di dalam sel (intrasel), yaitu pada sel hati dan sel darah. Salah satu ciri

patologis yang menjadi ciri khusus infeksi malaria adalah pembesaran organ limpa dan hati yang disebabkan oleh banyaknya eritrosit yang terinfeksi, limfosit dan sel makrofag yang terdeposit dalam kedua organ tersebut (Nugroho dkk., 2003).

Limpa merupakan tempat respon imun utama yang merupakan saringan terhadap antigen asal darah. Limpa merupakan tempat terjadinya filtrasi eritrosit yang terinfeksi parasit, selain itu limpa juga merupakan tempat utama pengaturan sistem imun untuk menentukan komponen imunitas yang akan diaktifkan (Bratawidjaja Gg, 2014).

Hati merupakan target organ yang memiliki peranan penting dalam siklus malaria, sebagai tempat terjadinya aktivitas parasit dan respon imun host (Vanderber *et al.*, 2004). Malaria serebral (malaria otak) merupakan manifestasi komplikasi malaria yang sering terjadi dan menyebabkan kematian, terutama pada anak dan orang dewasa dengan imunitas yang lemah. Di daerah yang endemik tinggi ia merupakan salah satu penyebab kematian pada anak usia di bawah 5 tahun (Sardjono dkk., 2005). Pada penelitian ini ingin diketahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak kulit batang pulai dan meniran terhadap gambaran hati, limpa, dan otak mencit galur swiss yang terinfeksi *P. berghei*.

BAHAN DAN METODE

Disain penelitian

Penelitian eksperimental laboratorium menggunakan Rancangan acak lengkap. Penelitian dilakukan di Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan tahun 2015 dengan persetujuan etik dari komisi etik Badan

Litbangkes
LB.02.01/5.2/KE.079/2015.

No.

diaklimatisasi selama lebih kurang 7 hari, dalam kandang polycarbonate dengan tutup stainless steel serta diberi pakan standar berupa pelet dan air minum ad-libitum.

Bahan dan cara kerja

Bahan uji adalah kulit batang pulai dan meniran didapatkan dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor Jawa Barat. Simplisia kulit batang pulai dan meniran diekstrak dengan cara maserasi menggunakan pelarut alkohol 70%. Dengan cara masing-masing simplisia dikeringkan, kemudian diserbuk dan diayak dengan ayakan berukuran 40. Serbuk ditimbang sejumlah 250gr dibasahi dengan pelarut etanol 70% didiamkan selama 18 jam dalam wadah tertutup dari gelas. Ekstrak cair yang diperoleh dikentalkan dengan rotary evaporator, kemudian ekstrak kental yang didapat ditampung dalam cawan porselen yang telah ditara kemudian diuapkan di dalam oven dengan suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ hingga etanol menguap dan diperoleh ekstrak kering, kemudian rendemen ekstrak dihitung untuk penghitungan dosis.

Pembuatan campuran dengan cara mencampurkan ekstrak kulit batang pulai dan dengan perbandingan 1:1. Pembuatan suspensi campuran ekstrak ini ditambahkan CMC 0,5%, untuk mempercepat kelarutan.

Parasit Malaria

Parasit yang digunakan adalah *P. berghei* galur ANKA yang didapatkan dari Laboratorium Parasit Badan Litbangkes Kemenkes RI.

Hewan coba

Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Swiss webster*) jantan, berumur 8-10 minggu dengan berat 25-30gram diperoleh dari Laboratorium Hewan Coba Badan Litbangkes Kementerian Kesehatan. Sebelum digunakan untuk penelitian, mencit

Proses inokulasi *P. berghei* diinfeksi secara intraperitoneal (i.p) sebanyak 10^7 parasit dalam 0,2ml darah per ekor mencit secara ip pada 5 ekor mencit donor. Setelah 4-5 hari, mencit yang diinfeksi diambil darah perifer diambil setiap hari dengan cara memotong ujung ekor, dibuat preparat ulas diperiksa angka parasitemianya dengan mikroskop. Bila bila didapat angka parasitemia lebih dari 30% maka dilakukan pengambilan darah dari jantung menggunakan syringe setelah terlebih dahulu mencit dibius dengan ketamine dan xylazine. Darah yang diperoleh dari jantung ditampung dalam tabung yang mengandung antikoagulan EDTA. Semua darah tersebut dicampur dan dilakukan pengenceran dengan PBS (Buffer Salin Phospat) lalu diinfeksi ke hewan coba. Tiap mencit disuntikkan ip 0,1ml (Moll *et al.*, 2008).

Pada pembuatan hewan coba terinfeksi *P. berghei*, mencit dikelompokkan secara acak, dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan, yaitu kelompok CMC (mencit diinfeksi *P. berghei* dan diterapi Carboxylmethyl cellulose (CMC)), kelompok DHP (mencit diinfeksi *P. berghei* yang diterapi Dihidroartemisinin Piperakuin (DHP) dosis 195mg/kg BB selama 3 hari), kelompok DBC (mencit diinfeksi *P. berghei* yang diterapi campuran dosis 1330mg/kgbb), kelompok DSC (mencit diinfeksi *P. berghei* yang diterapi campuran dosis 443,34mg/kgbb), kelompok DKC mencit diinfeksi *P. berghei* yang diterapi campuran dosis 147,78mg/kg

bb dan kelompok DBP (mencit diinfeksi P. berghei yang diterapi ekstrak pulai dosis 1330mg/kgbb). Pada setiap kelompok perlakuan terdiri dari 12 ekor mencit. Campuran ekstrak diberikan peroral menggunakan sonde lambung sekali sehari selama 14 hari.

Pembuatan Histologi Organ

Pada hari ke-4, ke-7, dan hari ke-14 hewan percobaan pada setiap kelompok dimatikan sebanyak masing-masing 4 ekor dengan melakukan anestesi menggunakan ketamine dosis 80-100mg/kg IP dan xylazine dosis 10mg/kg IP menggunakan syringe dan needle ukuran 25-27G x 13-25mm, dilakukan otopsi. Organ limpa, hati dan otak diambil, organ dipotong menggunakan *scalpel*, gunting, dan pinset dan disimpan di formalin untuk dibuat preparat histopatologi dengan pewarnaan HE.

Pemeriksaan Histopatologi organ

Kelainan patologis pada organ dilihat secara mikroskopis terhadap beberapa parameter yang diamati menggunakan mikroskop cahaya Nikon eclipse Ci series yang dilengkapi kamera *Digital DS-U3 Digital camera control units*. Pengamatan dilakukan dengan perbesaran 200x dan 400x.

Parameter terhadap organ limpa adalah: adanya hiperemia, akumulasi hemosiderin, adanya sel megalokaryosit, nekrosis dan deplesia pulpa merah. Parameter organ hati adalah: dilatasi sinusoid, polimorfonuklear, adanya hemosiderin, regenerasi/degenerasi/nekrosis, vakuolisasi sel epitel, infiltrasi sel mononuklear, adanya megalocytosis

dan adanya parasit darah. Parameter terhadap otak adalah: hemoragi, perivascular cuffing, keberadaan parasit darah dan infiltrasi sel mononuklear.

Organ otak, limpa dan hati dinilai indeks organnya.

$$\text{Indeks Organ} = \frac{[\text{Berat organ (g)}]}{[\text{Berat badan mencit (g)}]}$$

Analisis data terhadap indeks organ dilakukan dengan uji anova satu arah yang dilanjutkan uji beda nyata terkecil.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rata-rata dan standar deviasi indeks organ Limpa, Hati dan Otak. Tabel 1 menunjukkan bahwa pada indeks organ limpa mengalami perbedaan yang signifikan terjadi pada hari ke-7 antara DHP dengan kelompok DBC, DKC dan DBP ($p \leq 0.05$) dimana kelompok CMC memiliki nilai tertinggi. Tingginya indeks organ kelompok CMC disebabkan karena kelompok tersebut diinfeksi plasmodium tanpa diberi pengobatan sehingga plasmodium dapat berkembang di dalam jaringan serta merusak jaringan yang menyebabkan terjadinya akumulasi hemosiderin yang mengindikasikan terjadinya haemorrhagi dan nekrosis jaringan limpa serta pertumbuhan sel megakaryosit. Sebaliknya indeks organ terkecil pada hari yang sama dijumpai pada kelompok DHP namun tidak berbeda signifikan dengan kelompok DSC. Besar kecilnya indeks limpa berkaitan dengan tingkat parasitemia mencit tersebut.

Tabel 1. Rata-rata dan standar deviasi indeks organ limpa

Kelompok	Rata-rata \pm SD indeks Limpa		
	Hari ke-		
k	D4	D7	D14
CMC	0,014 \pm 0,002a	0,032 \pm 0,033abcde	0,022 \pm 0,004a
DHP	0,008 \pm 0,003b	0,008 \pm 0,004ac	0,011 \pm 0,007ab
DBC	0,011 \pm 0,001ab	0,023 \pm 0,014bde	0,015 \pm 0,003ab
DSC	0,010 \pm 0,000cb	0,016 \pm 0,001cde	0,014 \pm 0,002b
DKC	0,011 \pm 0,001bd	0,017 \pm 0,004de	0,014 \pm 0,002b
DBP	0,010 \pm 0,003ab	0,017 \pm 0,008d	0,016 \pm 0,004ab

Ket: Huruf yang berbeda pada hari yang sama menyatakan perbedaan yang signifikan ($p \leq 0.05$)

Keterangan: (berlaku untuk tabel 1, 2 dan 3.

CMC = Carboxymethyl cellulose 0,5%;

DHP = Dehidroartemisinin piperakuin (dehidroartemisinin 15,6mg; piperakuin 124,5mg/kgbb);

DBC = Pulai 1330mg/kgbb + meniran 1330mg/kgbb;

DSC = Pulai 443,34mg/kgbb + meniran 443,34mg/kgbb;

DKC = Pulai 147,78mg/kgbb + meniran 147,78mg/kgbb;

DBP = Pulai 133 mg/kgbb

D4= Pengamatan hari ke-4

D7= Pengamatan hari ke-7

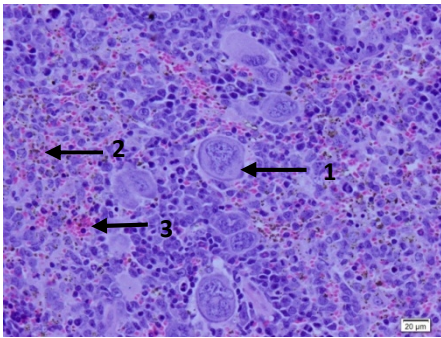
D14 = Pengamatan hari ke-14

Dari hasil penelitian yang sama dihari yang sama (D7) memperlihatkan nilai parasitemia yang berbanding lurus dengan nilai indeks limpa, semakin tinggi parasitemia maka tinggi pula indeks limpa dan sebaliknya (Intan dkk., 2016).

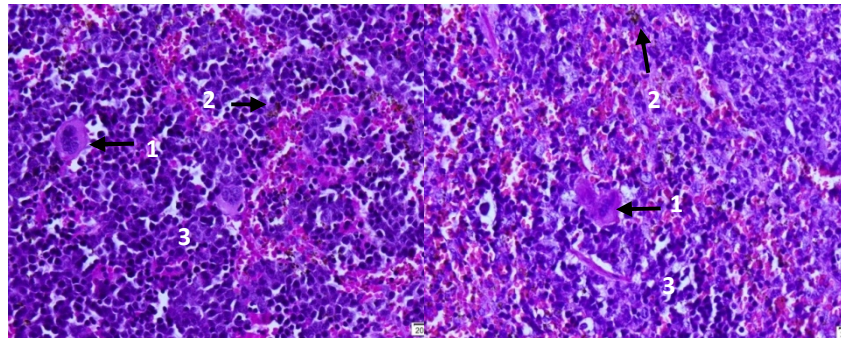
Secara makroskopis infeksi plasmodium menyebabkan pembesaran limpa. Jaringan limpa akan berusaha untuk membentuk sel darah merah baru serta melindungi jaringan dari infeksi plasmodium melalui sistem imunitas. Hal ini sejalan dengan penelitian lain yang menyatakan bahwa Plasmodium dan pigmen malaria (haemozoin) difagositosis secara aktif oleh makrofag limpa sehingga pada pemeriksaan makroskopis limpa tampak membesar. Pada penelitian ini dijumpai banyak sel megakaryosit yang merupakan bagian dari pembelahan sel

untuk menghasilkan sel baru, namun plasmodium mempunyai sistem pertahanan untuk menghindari serangan dari sistem imunitas limpa. Plasmodium yang lolos dari serangan ini membentuk oklusi di dalam pembuluh darah sehingga terjadi penyumbatan sirkulasi darah dan pembengkakan limpa (Mohanty *et al.*, 2006).

Secara mikroskopik (Gambar 1, 2 dan 3) terlihat bahwa terjadi akumulasi hemosiderin berwarna coklat tua, pertumbuhan sel megalokaryosit, hyperemia, nekrosis interstitialis dan deplesia pulpa merah. Hal ini sejalan dengan penelitian lain bahwa pada limpa terinfeksi plasmodium secara mikroskopis terdapat peningkatan jumlah sel makrofag, akumulasi hemosiderin dan penyebaran haemozoin.



Gambar 1. Splenomegali. 1. Sel megakaryosit, 2. hemosiderin, dan 3. haemorrhagi. HE. x400.



Gambar 2. Akumulasi hemosiderin pada limpa. 1. hemosiderin, 2. sel megakaryosit dan 3. sel limfosit. HE. x400.

Gambar 3. Splenonekrosis. 1. sel megakaryosit, 2. hemosiderin, dan 3. nekrosis interstitialis. HE. x400.

Secara mikroskopis terlihat peningkatan jumlah sel makrofag sebagaimana pulpa merah berukuran lebih kecil dibanding pulpa putih tempat dimana sel mononuclear seperti limfosit dan makrofag berakumulasi. Sel makrofag berperan penting dalam proses eliminasi parasit melalui proses fagositosis dan oksidasi². Disamping itu, infeksi plasmodium dapat juga menimbulkan anemia pada hewan terinfeksi akibat sitoplasma eritrosit hospes diingesti oleh merozoit dan hemoglobin berubah menjadi asam amino dan pigmen hemozoin. Pigmen yang dihasilkan oleh plasmodium menyebabkan perubahan warna pada hati dan limpa menjadi kecokelatan (Brown, 1979), sebagaimana terlihat adanya akumulasi hemosiderin pada kedua jaringan tersebut dalam penelitian ini.

Hemozoin adalah produk detoksifikasi parasit yang dilepaskan ke dalam peredaran darah ketika eritrosit terinfeksi. Hemozoin berfungsi untuk menghambat fungsi monosit dan menginduksi makrofag untuk mengeluarkan sitokin proinflamasi dan mediator lainnya dengan efek penghambatan pada eritropoiesis

(Schmidt *et al.*, 2011, and Thawani, 2013).

Pada siklus akhir replikasi plasmodium, RBC yang terinfeksi mengalami pemecahan dan pelepasan merozoit dan hemozoin ke dalam aliran darah. Hemozoin bebas di dalam aliran darah akan difagositosis oleh sel fagosit terutama makrofag disekitarnya. Oleh karena itu, jumlah hemozoin paska infeksi malaria akan berkorelasi dengan fungsi sistem imunitas dan kejadian infeksi (Rosangela *et al.*, 2012).

Hasil uji antara kelompok CMC dan kelompok lainnya terlihat adanya kecenderungan peningkatan kerusakan limpa kecuali pada kelompok DBC yang cenderung menurun. Hal ini dapat dipengaruhi oleh nilai hemozoin. Pada kelompok DHP kerusakan cenderung tidak bertambah. Hal ini membuktikan bahwa salah satu mekanisme kerja DHP adalah menghambat pembentukan hemozoin. Hal ini juga pernah dinyatakan dalam penelitian lain bahwa Artemisinin mampu menghambat biosintesis hemozoin, yang dalam penelitian ini dilakukan terhadap *cell free condition* pada konsentrasi mikro molar (EM) (Noer Aini dkk., 2004).

Berdasarkan keberadaan sel megakariosit pada limpa, maka pada semua hewan percobaan dapat dijumpai sel megakariosit. Sel megakaryosit tidak dianalisis secara kuantitatif dalam penelitian ini tetapi dilakukan berdasarkan deskriptif kualitatif kerusakan. Pada penelitian ini terlihat bahwa aktivitas makrofag dan keberadaan hemozoin terlihat menurun pada hari ke-14 terutama pada kelompok DBC.

Menurut Dkhill, keberadaan sel megakariosit di dalam jaringan limpa disebabkan karena sel megakariosit berfungsi dalam proses fagositosis sel darah merah yang terinfeksi plasmodium, dan pada penelitian tersebut jumlah sel megakariosit meningkat seiring dengan makin lamanya pengamatan pasca infeksi plasmodium (Dhikil M, 2009). Sementara itu hasil penelitian yang

dilakukan oleh Raharjo dkk melaporkan bahwa jumlah sel megakariosit mengalami penurunan seiring dengan lama pengamatan pasca infeksi *P. berghei* (Tur Rahardjo, 2013).

Sel megakariosit selain berfungsi dalam proses fagositosis sel darah merah terinfeksi juga berfungsi dalam proses fagositosis haemozoin pada limpa². Berdasarkan struktur histologi dari pulpa putih dan merah pada limpa, deplesia pulpa merah terlihat dalam penelitian ini sehingga terlihat terjadinya pelebaran area pulpa putih. Hal ini hampir sama dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Tur Rahardjo dimana pada kelompok yang diterapi juga dijumpai deplesia pulpa merah. Sebaliknya dengan kelompok mencit terinfeksi plasmodium yang tidak diterapi tidak dijumpai deplesia pulpa merah.

Tabel 2. Rata-rata dan standar deviasi indeks organ hati

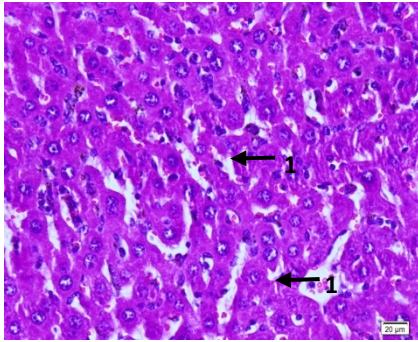
Klpk	Rata-rata ± SD indeks Hati		
	Hari ke-		
	D4	D7	D14
CMC	0,055±0,002a	0,071±0,002a	0,085±0,016a
DHP	0,048±0,007a	0,053±0,001b	0,056±0,022ab
DBC	0,067±0,006b	0,078±0,010a	0,066±0,006ab
DSC	0,064±0,010a	0,075±0,013ac	0,066±0,015ab
DKC	0,059±0,009a	0,060±0,004c	0,064±0,005ab
DBP	0,061±0,011a	0,067±0,022abc	0,060±0,003b

Ket: Huruf yang berbeda pada hari yang sama menyatakan perbedaan yang signifikan ($p \leq 0.05$)

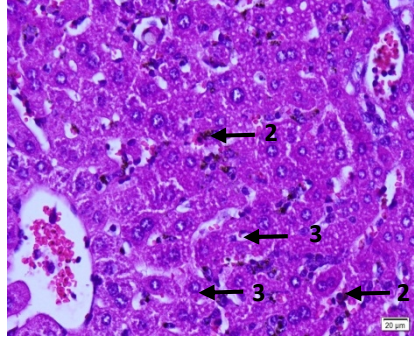
Dari tabel indeks organ hati terlihat pada hari ke-4 terjadi perbedaan yang signifikan ($p \leq 0.05$) antara DHP dengan DBC, pada hari ke-7 DHP berbeda signifikan dengan DBC, DSC dan DKC sedangkan dihari ke-14 tidak ada perbedaan yang signifikan

pada semua kelompok percobaan. Secara umum kelompok yang diberi campuran ekstrak memiliki nilai indeks limpa diantara CMC dan DHP.

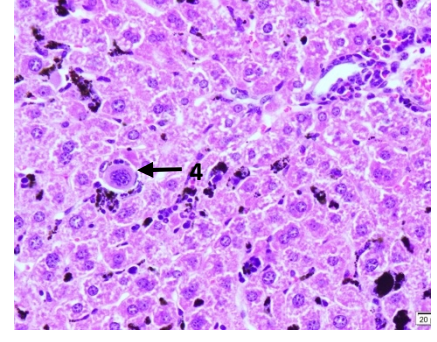
Gambaran hati mencit terinfeksi *P. berghei* dapat dilihat pada gambar berikut:



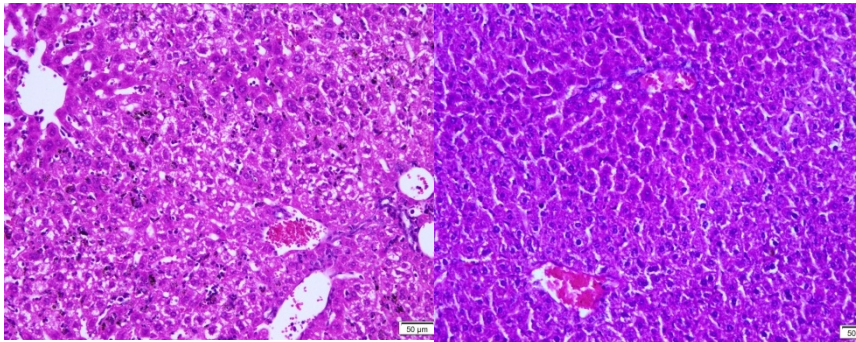
Gambar 4. Dilatasi sinusoid (1). HE. x400.



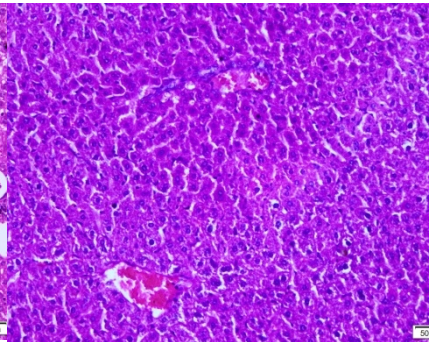
Gambar 5. Hemosiderin(2), Regenerasi(3) HE. x400.



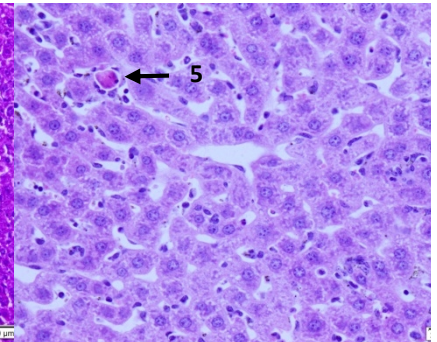
Gambar 6. Megalocytosis (4). HE. x400.



Gambar 7. Area Nekrosa. HE.x200.



Gambar 8. Tidak ada kelainan. HE. x200.



Gambar 9. Plasmodium (5). HE. x400.

Pada peneitian ini terlihat bahwa Plasmodium dapat menyebabkan kerusakan berupa vakuolisasi sel epitel, degenerasi sampai dengan nekrosis, infiltrasi mononuklear, polimorfonuklear, akumulasi hemosiderin, dilatasi sinusoid, megalocytosis dan keberadaan parasit darah.

Infiltrasi mononuklear dan polimorfonuklear, adalah respon terhadap adanya parasit dalam hati. Sedangkan degenerasi sampai nekrosis adalah respon sekunder dari parasit yang ada dalam darah. Perubahan diatas lebih banyak terlihat pada kelompok CMC.

Pada kelompok DHP secara umum tidak terlihat perubahan jaringan. Hal ini disebabkan zat aktif dalam DHP dapat menekan jumlah plasmodium pada hati. Adanya degenerasi, polimorfonuklear dan hemosiderin disebabkan oleh

keberadaan parasit saat awal diinfeksi ke mencit.

Pada semua kelompok perlakuan , gambaran kerusakan yang lebih berat terlihat pada pada hari ke-7 (puncak infeksi) bila dibandingkan dengan hari ke-4 dan 14. DBC memiliki derajat kerusakan yang lebih ringan pada semua hari pengamatan dibandingkan DSC, DKC dan DBP. Hal ini disebabkan karena dosis yang lebih tinggi dapat menekan terjadinya kerusakan hati. Hal ini seiring dengan penelitian yang dilakukan oleh Ashutosh kumar 2012, dimana ekstrak metanol kulit batang pulai (200 mg/kgbb) dapat berperan sebagai hepatoprotektor pada mencit Swiss albino yang diinduksi CCl₄ (Rakiswende *et al.*, 2012).

Dari penelitian ini juga terlihat bahwa campuran dosis besar ekstrak kulit batang pulai dan meniran (DBC) lebih efektif menekan kerusakan jika

dibandingkan dengan pemberian dosis besar ekstrak tunggal kulit batang pulai (DBP). Hal ini disebabkan karena adanya kombinasi campuran dengan ekstrak meniran. Menurut penelitian Harish 2006, pemberian ekstrak meniran secara invivo memperlihatkan kemampuan penghambatan peroksidase lipid pada tikus yang diinduksi CCl₄ (Harish *et al.*, 2006).

Walaupun DBC dapat menekan terjadinya inflamasi malaria hepatitis namun belum dapat mencegah terjadinya perubahan degenerasi

sampai dengan nekrosis yang terinduksi oleh parasit darah tersebut (plasmodium) pada hari ke-4 dan ke-7, sedangkan pada hari ke-14 masih ada infiltrasi sel mononuklear tapi sudah tidak ada nekrosis jaringan hati. Hal ini seiring dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Keishi *et al.*, 2017, bahwa pada akhir penelitian analisis histologi hati mencit terinfeksi *P. berghei* memperlihatkan ketidak-hadiran nekrosis dan apoptosis tapi tetap ada nya infiltrasi limfosit (Keishi *et al.*, 2001) (Parnpen *et al.*, 2014).

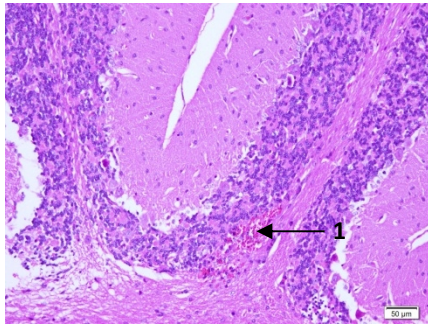
Tabel 3. Rata-rata dan standar deviasi indeks organ otak

Klpk	Rata-rata ± SD indeks Otak		
	Hari ke-		
	D4	D7	D14
CMC	0,015±0,002a	0,018±0,001a	0,027±0,004b
DHP	0,012±0,002a	0,016±0,001a	0,015±0,002a
DBC	0,016±0,001a	0,018±0,003a	0,015±0,000a
DSC	0,015±0,002a	0,018±0,003a	0,016±0,001a
DKC	0,015±0,001a	0,015±0,001a	0,016±0,001a
DBP	0,016±0,002a	0,016±0,001a	0,017±0,001a

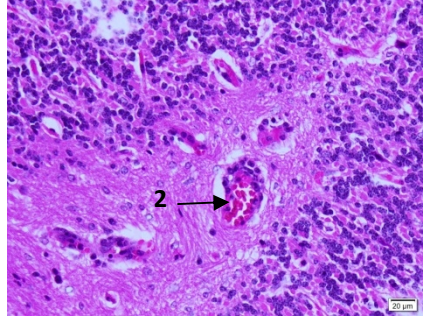
Ket: Huruf yang berbeda pada hari yang sama menyatakan perbedaan yang signifikan ($p \leq 0.05$)

Berdasarkan nilai indeks otak, hasil penelitian memperlihatkan bahwa pada hari ke-14 terlihat perbedaan yang signifikan antara kelompok CMC

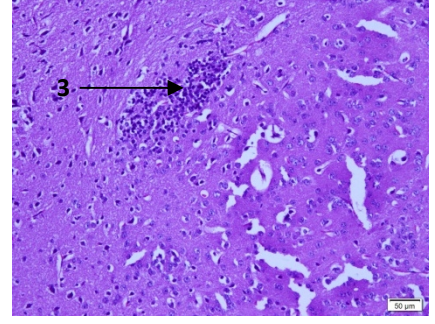
dengan semua kelompok perlakuan ($p \leq 0.05$). Berikut adalah gambaran perubahan Otak mencit.



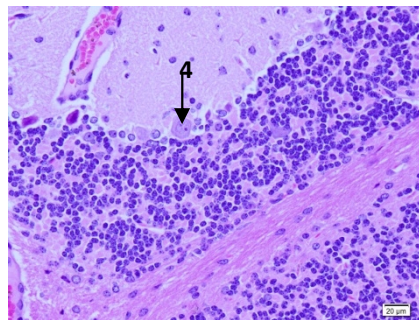
Gambar 10. Haemorrhagi (1). HE. x200.



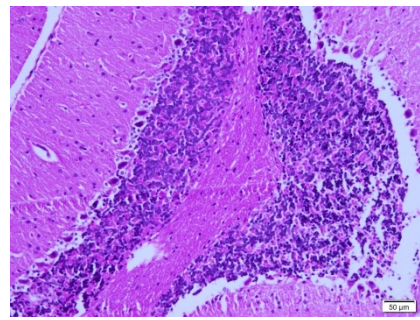
Gambar 11. Perivascular cuffing (2). HE.x400.



Gambar 12. Infiltrasi limfosit (3) HE.x200.



Gambar 13. Plasmodium(4).. HE.x400.



Gambar 14. Tidak ada kelainan. HE.x200.

Secara umum gambaran otak semua kelompok perlakuan kecuali CMC adalah normal, hanya beberapa ekor saja yang mengalami perubahan patologis, seperti 1 ekor mencit mengalami haemorrhagi pada kelompok DBC dan 1 ekor mencit yang mengalami perivascular cuffing masing-masing dikelompok DBC DSC dan DKC. Dan 2 ekor mencit infiltrasi sel mononuklear pada kelompok DHP. Sedangkan plasmodium ditemukan di otak pada kelompok CMC hari ke 7 dan DBP hari ke-4. Penyebab terjadinya malaria otak diduga melibatkan penyerapan RBC yang terinfeksi dan akumulasi sel radangi di kapiler otak. Leukosit dan platelet yang ada di endothelium menyebabkan terjadinya oklusi di kapiler otak., menyebabkan terganggunya aliran mikrovaskuler, menurunkan suplai nutrisi ke otak, dan merusak dinding kapiler sehingga menyebabkan

haemorrhagi dan kerusakan syaraf (Van Der Heyde *et al.*, 2006). Menurut penelitian Carol 2010, potongan otak mencit terinfeksi malaria memperlihatkan adanya haemorrhagi dan inflamasi (Carrol *et al.*, 2010).

KESIMPULAN

Indeks organ limpa dan otak pada puncak infeksi pada semua kelompok percobaan tidak memperlihatkan perbedaan yang signifikan, sedangkan indeks hati terkecil pada puncak infeksi terdapat pada kelompok dosis campuran kulit batang pulai dan meniran 147.78mg/kgbb. Hasil pengamatan histopatologi kerusakan organ limpa, hati dan otak pada kelompok dosis campuran kulit batang pulai dan meniran 1330mg/kgbb memperlihatkan kerusakan organ yang lebih

ringan dibandingkan dengan kelompok lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Ani Isnawati, MS, Apt dan Dr. Drs. Amrul Munif, M.Sc. APU sebagai pembina Risbinkes 2015. Begitupula disampaikan kepada Tim Teknis Risbinkes 2015 atas masukan dan saran selama melakukan penelitian, serta anggota tim penelitian di Laboratorium Hewan Coba Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes Kemenkes RI. Penelitian ini terlaksana atas pendanaan dari Risbinkes Badan Litbangkes Kemenkes RI 2015.

KEPUSTAKAAN

Global Technical Strategy For Malaria 2016–2030. WHO.

Wijayanti AM, Hendrina E dan Mardihusodo YS Efek Bee Propolis Terhadap Infeksi Plasmodium Berghei Pada Mencit Swiss Berkala Ilmu Kedokteran 2003 35: 81-89.

Siswandono & Soekardjo B Kimia Medisinal Edisi 2 Surabaya Airlangga University; 2000 Hal 84-86.

Singh MP, Panda H Medicinal Herbs With Their Formulations Delhi: Daya Publishing House; 2005 Pp 88-90.

Elfahmi NV Phytochemical and Biosynthetic Studies of Lignans with a Focus on Indonesian Medicinal Plants sn, 2006p 126.

ASEAN Standart Of Asean Herbal Medicines (Vol 2) Jakarta: Asean Countries; 2004 p:142-150.

Nugroho A, Harijanto PN, Datau EA Immunologi Malaria Malaria: Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis Dan Penanganan Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran (EGC); 2003.

Bratawidjaja Gg Immunologi Dasar ed 11 Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran UI; 2014.

Vanderberg Jp, Frevert U Intravital Microscopy Demonstrating Antibody-Mediated Immobilisation Of Plasmodium Berghei Sporozoites Injected Into Skin By Mosquitoes Int J Parasitol 2004 34(9): 991–996.

Sardjono TW dan Fitri EL Malaria, Mekanisme Terjadinya Penyakit Dan Pedoman Penanganannya Malang: Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya 2005.

Moll K, Ljungstrom I, Perlmann H, Scherf A, Wahlgren M, editors Methods In Malaria Research Fifth Edition Glasgow: EVIMalaR; 2008.

Intan PR, Winarno Wien dan Prihartini N Efek Ekstrak Campuran Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris*) dan Meniran (*Phyllanthus niruri*) pada Mencit Swiss Webster yang Diinfeksi Plasmodium Berghei Jurnal Kefarmasian Indonesia 2016 Vol 6(2):Agustus2016.

Mohanty S, Patel DK, Pati SS, and Mishra SK Adjuvant Therapy In Cerebral Malaria Indian J Med Res 2006 124(3): 245.

Brown HW Dasar Patologi Klinis Jakarta: Gramedia; 1979 .

Schmidt KE Analysis Of Parasite-Specific T Cells And Cellular Interactions In The Spleen During Plasmodium Berghei Induced Experimental Cerebral Malaria [Disertasi] Germany University Of Bonn; 2011.

Thawani N Plasmodium Product Contribute To Severe Malarial Anemia By Inhibiting Eritropoietin Induce Proliferation Of Erythroid Precursors J Of Infect Dis Adv Acces 2013 September 12.

Rosangela Frita, Daniel Carapau, Maria M Mota, And Thomas H Änscheid In Vivo Hemozoin Kinetics After Clearance Of Plasmodium Berghei Infection In Mice Hindawi Publishing Corporation Malaria Research And Treatment 2012 Volume 2012.

- Noer Aini, Soebaktiningsih, Loeki Enggar Fitri Pengaruh Ekstrak Biji Nimba (*Azadirachta Indica*) Terhadap Penurunan Derajat Parasit Dan Jumlah Hemozoin Pada Kultur Plasmodium Falciparum Jurnal Kedokteran Brawijaya 2004 Vol XX, No3, Desember.
- Dkhil Mae Apoptotic Changes Induced In Mice Splenic Tissue Due To Malaria Infection J Microbiol Immunol Infect 2009 42: 13-18 .
- Tur Rahardjo, Siti Nurhayati dan Dwi Ramadhani Studi Histopatologi Limpa Mencit Pasca Infeksi Plasmodium Berghei Iradiasi Gamma Stadium Eritrositik Seminar Nasional VIII SDM Teknologi Nuklir, Yogyakarta 31 Oktober, 2013.
- Rakiswende SY, Leonardo Lucantonio, Giulio Lupidi Antimalarial Plant Remedies From Burkina Faso: Their Potential For Prophylactic Use Journal Of Ethnopharmacology 2012.140 (2012) 255- 260.
- R Harish, T Shivanandappa Antioxidant Activity And Hepatoprotective Potential Of *Phyllanthus Niruri* Food Chemistry 2006 180-185 .
- Keishi Adachi, Hiroko Tsutsui, Shin-Ichiro Kashiwamura Plasmodium Berghei Infection In Mice Induces Liver Injury By An Il-12- And Toll-Like Receptor/Myeloid Differentiation Factor 88-Dependent Mechanism J Immunol 2001 No 167.
- Parnpen Viriyavejakul, Vasant Khachohansaksumet, Chuchard Punsawad Liver Changes In Severe Plasmodium Falciparum Malaria: Histopatology, Apoptosis And Nuclear Factor Kappa B Expression Malaria Journal 2014 13:106 .
- Van Der Heyde HC, Nolan J, Combes V, Gramaglia I, Grau Ge A Unified Hypothesis For The Genesis Of Cerebral Malaria: Sequestration, Inflammation And Hemostasis Leading To Microcirculatory Dysfunction Trends Parasitol 2006 22:503-508.
- Carroll RW, Wainwright MS, Kim KY, Kidambi T, Gomez ND, Taylor T, Haldar K A Rapid Murine Coma And Behavior Scale For Quantitative Assessment Of Murine Cerebral Malaria Plos One 2010 5:E13124.